SNI

SNI 3543.2:2013

Standar Nasional Indonesia

Kecap kedelai – Bagian 2: Asin

ICS 67.060

Badan Standardisasi Nasional

"Hak Cipta Badan Standardisasi Nasional, copy standar ini dibuat untuk penayangan di website Akses SNI dan tidak untuk dikomersilkan"

"Hak Cipta Badan Standardisasi Nasional, copy standar ini dibuat untuk penayangan di website Akses SNI dan tidak untuk dikomersilkan"

© BSN 2013

Hak cipta dilindungi undang-undang. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh isi dokumen ini dengan cara dan dalam bentuk apapun serta dilarang mendistribusikan dokumen ini baik secara elektronik maupun tercetak tanpa izin tertulis dari BSN

BSN
Gd. Manggala Wanabakti
Blok IV, Lt. 3,4,7,10.
Telp. +6221-5747043
Fax. +6221-5747045
Email: dokinfo@bsn.go.id
www.bsn.go.id

Diterbitkan di Jakarta

Daftar isi

Daftar isi i
Prakata ii
1 Ruang lingkup 1
2 Acuan normatif 1
3 Istilah dan definisi 1
4 Komposisi 1
5 Syarat mutu 2
6 Pengambilan contoh 2
7 Cara uji 2
8 Syarat lulus uji 3
9 Higiene 3
10 Pengemasan 3
11 Syarat penandaan 3
Lampiran A (normatif) Cara uji kecap kedelai asin 4
Bibliografi 26

"Hak Cipta Badan Standardisasi Nasional, copy standar ini dibuat untuk penayangan di website Akses SNI dan tidak untuk dikomersilkan"

© BSN 2013

Prakata

Standar Nasional Indonesia (SNI) *Kecap kedelai – Bagian 2: Asin* ini merupakan revisi SNI 01 – 3543 – 1999 *Kecap kedelai*. Standar ini direvisi dan dirumuskan dengan tujuan sebagai berikut :

- Menyesuaikan standar dengan perkembangan teknologi terutama dalam metode uji dan persyaratan mutu;
- Menyesuaikan standar dengan peraturan-peraturan baru yang berlaku.
- Melindungi kesehatan konsumen;
- Menjamin perdagangan pangan yang jujur dan bertanggung jawab;
- Mendukung perkembangan dan diversifikasi produk industri kecap kedelai.

Standar ini dirumuskan dengan memperhatikan ketentuan pada :

1. Undang-Undang Republik Indonesia No.5 Tahun 1984 tentang Perindustrian.
2. Undang-Undang Republik Indonesia No.7 Tahun 1996 tentang Pangan.
3. Undang-Undang Republik Indonesia No. 8 Tahun 1999 tentang Perlindungan Konsumen
4. Undang-Undang Republik Indonesia No.36 Tahun 2009 tentang Kesehatan.
5. Peraturan Pemerintah Republik Indonesia No.69 Tahun 1999 tentang Label dan Iklan Pangan.
6. Peraturan Pemerintah Republik Indonesia No.28 Tahun 2004 tentang Keamanan, Mutu, dan Gizi Pangan.
7. Peraturan Menteri Kesehatan No. 722/MENKES/PER/IX/1988, tentang Bahan Tambahan Makanan atau revisinya.
8. Peraturan Menteri Perindustrian Republik Indonesia No. 24 / M-IND/ 2/ 2010 tentang Pencantuman Logo Tara Pangan dan Kode Daur Ulang Pada Kemasan Pangan Dari Plastik.
9. Keputusan Menteri Perindustrian Republik Indonesia Nomor 75/ M-IND/ 7/ 2010 tentang Pedoman Cara Produksi Pangan Olahan yang Baik.
10. Surat Keputusan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia No. HK.00.05.52.4040 Tahun 2006 tentang Kategori Pangan.
11. Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia No. HK. 00.06.1.52.4011 Tahun 2009 tentang Penetapan Batas Maksimum Cemaran Mikroba dan Kimia dalam Makanan.

Standar ini dirumuskan oleh Panitia Teknis 67-04, Makanan dan Minuman Kementerian Perindustrian, yang telah dibahas melalui rapat teknis, dan disepakati dalam rapat konsensus pada tanggal 24 November 2011 di Jakarta. Hadir dalam rapat tersebut wakil dari konsumen, produsen, lembaga pengujian, lembaga ilmu pengetahuan dan teknologi, Badan Pengawas Obat dan Makanan, dan instansi terkait lainnya.

Standar ini telah melalui proses jajak pendapat pada tanggal 22 Maret 2012 sampai dengan tanggal 21 Mei 2012 dengan hasil akhir RASNI.

"Hak Cipta Badan Standardisasi Nasional, copy standar ini dibuat untuk penayangan di website Akses SNI dan tidak untuk dikomersilkan"

Kecap kedelai – Bagian 2: Asin

1 Ruang lingkup

Standar ini menetapkan istilah dan definisi, syarat mutu, pengambilan contoh, dan cara uji kecap kedelai asin.

Standar ini berlaku untuk kecap yang mengandung hasil fermentasi kedelai.

2 Acuan normative

Untuk acuan tidak bertanggal berlaku edisi terakhir (termasuk revisi dan atau amandemen)

SNI 0428, *Petunjuk pengambilan contoh padatan*.

3 Istilah dan definisi

3.1
kecap kedelai asin
produk berbentuk cair yang dibuat dari cairan hasil fermentasi kedelai atau bungkil kedelai dengan atau tanpa penambahan bahan pangan lain dan bahan tambahan pangan yang diijinkan

3.2
cairan hasil fermentasi
ekstrak hasil fermentasi kedelai oleh kapang *Aspergillus oryzae* atau jenis kapang lain yang tidak menghasilkan mikotoksin, serta khamir dan atau bakteri bila diperlukan dengan atau tanpa penambahan enzim selama proses fermentasi dalam larutan garam

3.3
bungkil kedelai
kedelai yang telah diambil sebagian minyaknya

4 Komposisi

4.1 Bahan baku

a. Kedelai atau bungkil kedelai;
b. Garam; dan
c. Air

4.2 Bahan tambahan pangan

Bahan tambahan pangan yang diizinkan untuk kecap kedelai asin sesuai dengan ketentuan yang berlaku.

"Hak Cipta Badan Standardisasi Nasional, copy standar ini dibuat untuk penayangan di website Akses SNI dan tidak untuk dikomersilkan"

5 Syarat mutu

Syarat mutu kecap kedelai asin sesuai Tabel 1 di bawah ini.

Tabel 1 – Syarat mutu kecap kedelai asin

No.	Kriteria uji	Satuan	Persyaratan
1	Keadaan		
1.1	Bau	-	Normal, khas
1.2	Rasa	-	Normal, khas
2	Kadar protein (N x 6,25)	% (b/b)	min. 4,0
3	Total garam (NaCl)	%(b/b)	min. 10
4	pH	-	3,5 – 6,0
5	Cemaran logam		
5.1	Timbal (Pb)	mg/kg	maks. 1,0
5.2	Kadmium (Cd)	mg/kg	maks. 0,2
5.3	Timah (Sn)	mg/kg	maks. 40,0
5.4	Merkuri (Hg)	mg/kg	maks. 0,05
6	Cemaran arsen (As)	mg/kg	maks. 0,5
7	Cemaran mikroba		
7.1	Bakteri koliform	APM/g	< 3
7.2	Kapang	koloni/g	maks. 50
8	Aflatoksin*)		
8.1	B_1	µg/kg	maks. 15
8.2	Total aflatoksin	µg/kg	maks. 20
CATATAN: * hanya untuk cairan hasil fermentasi kedelai			

6 Pengambilan contoh

Cara pengambilan contoh sesuai dengan SNI 0428.

7 Cara uji

Cara uji untuk kecap kedelai asin adalah seperti di bawah ini:

a) Persiapan contoh sesuai Lampiran A.1;

"Hak Cipta Badan Standardisasi Nasional, copy standar ini dibuat untuk penayangan di website Akses SNI dan tidak untuk dikomersilkan"

b) Cara uji keadaan sesuai Lampiran A.2
 - Cara uji bau sesuai Lampiran A.2.1
 - Cara uji rasa sesuai Lampiran A.2.2

c) Cara uji kadar protein (Nx6,25) sesuai Lampiran A.3;

d) Cara uji total garam (NaCl) sesuai Lampiran A.4;

e) Cara uji pH sesuai Lampiran A.5;

f) Cara uji cemaran logam sesuai Lampiran A.6
 – Cara uji kadmium (Cd) dan timbal (Pb) sesuai Lampiran A.6.1
 – Cara uji timah (Sn) sesuai Lampiran A.6.2
 – Cara uji merkuri (Hg) sesuai Lampiran A.6.3

g) Cara uji cemaran arsen (As) sesuai Lampiran A.7;

h) Cara uji cemaran mikroba sesuai Lampiran A.8
 - Persiapan dan homogenisasi contoh sesuai Lampiran A.8.1
 - Cara uji bakteri koliform sesuai Lampiran A.8.2
 - Cara uji kapang sesuai Lampiran A.8.3

j) Cara uji Aflatoksin sesuai Lampiran A.9

8 Syarat lulus uji

Produk dinyatakan lulus uji apabila memenuhi syarat mutu.

9 Higiene

Cara memproduksi produk yang higienis termasuk cara penyiapan dan penanganannya sesuai dengan ketentuan yang berlaku tentang Pedoman Cara Produksi Pangan Olahan yang Baik.

10 Pengemasan

Produk dikemas dalam wadah yang tertutup rapat, tidak dipengaruhi atau mempengaruhi isi, aman selama penyimpanan dan pengangkutan.

11 Syarat penandaan

Syarat penandaan sesuai dengan ketentuan yang berlaku tentang label dan iklan pangan

.

"Hak Cipta Badan Standardisasi Nasional, copy standar ini dibuat untuk penayangan di website Akses SNI dan tidak untuk dikomersilkan"

Lampiran A
(normatif)
Cara uji kecap kedelai asin

A.1 Persiapan contoh

Persiapan contoh terdiri atas persiapan contoh untuk uji mikrobiologi, uji organoleptik, dan uji kimia. Pengambilan contoh untuk uji mikrobiologi dilakukan pertama, kemudian dilanjutkan dengan pengambilan contoh untuk uji organoleptik dan uji kimia.

A.1.1 Persiapan contoh untuk uji mikrobiologi

Buka kemasan contoh kecap kedelai asin dan ambil contoh secara aseptik sebanyak 200 g, kemudian tempatkan dalam botol contoh steril.

A.1.2 Persiapan contoh untuk uji organoleptik

Buka kemasan contoh kecap kedelai asin dan ambil contoh secukupnya, kemudian tempatkan dalam botol contoh yang bersih dan kering.

A.1.3 Persiapan contoh untuk uji kimia

Buka kemasan contoh kecap kedelai asin dan ambil contoh sebanyak 200 g, kemudian tempatkan dalam botol contoh yang bersih dan kering.

A.2 Keadaan

A.2.1 Bau

A.2.1.1 Prinsip

Pengamatan contoh uji dengan indera penciuman yang dilakukan oleh panelis yang terlatih atau kompeten untuk pengujian organoleptik.

A.2.1.2 Cara kerja

a) Ambil contoh uji secukupnya dan letakkan di atas gelas arloji yang bersih dan kering;
b) cium contoh uji untuk mengetahui baunya; dan
c) lakukan pengerjaan minimal oleh 3 orang panelis yang terlatih atau 1 orang tenaga ahli.

A.2.1.3 Cara menyatakan hasil

a) Jika tidak tercium bau asing, maka hasil dinyatakan “normal”; dan
b) jika tercium bau asing, maka hasil dinyatakan “tidak normal”.

“Hak Cipta Badan Standardisasi Nasional, copy standar ini dibuat untuk penayangan di website Akses SNI dan tidak untuk dikomersilkan"

A.2.2 Rasa

A.2.2.1 Prinsip

Pengamatan contoh dengan indera pengecap (lidah) yang dilakukan oleh panelis yang terlatih atau kompeten untuk pengujian organoleptik.

A.2.2.2 Cara kerja

a) Ambil contoh secukupnya dan rasakan dengan indera pengecap (lidah); dan
b) lakukan pengerjaan minimal oleh 3 orang panelis atau 1 orang tenaga ahli.

A.2.2.3 Cara menyatakan hasil

a) Jika tidak terasa rasa asing, maka hasil dinyatakan “normal”; dan
b) jika terasa rasa asing, maka hasil dinyatakan “tidak normal”.

A.3 Kadar protein (N×6,25)

A.3.1 Prinsip

Contoh didestruksi untuk melepaskan nitrogen dari protein sebagai garam amonium. Garam amonium tersebut diuraikan menjadi NH_3 pada saat destilasi menggunakan NaOH. NH_3 yang dibebaskan dan diikat dengan asam borat menghasilkan ammonium borat yang secara kuantitatif dititrasi dengan larutan baku asam sehingga diperoleh total nitrogen. Kadar protein diperoleh dari hasil kali total nitrogen dengan 6,25.

A.3.2 Peralatan

a) Alat destilasi Kjeldahl konvensional atau otomatis;
b) Alat destruksi;
c) Neraca analitik terkalibrasi dengan ketelitian 0,1 mg;
d) Pemanas listrik; dan
e) Buret 10 mL terkalibrasi.

A.3.3 Pereaksi

a) Katalis tablet mengandung 3,5 g Kalium Sulfat (K_2SO_4) dan 0,175 g Merkuri Oksida (HgO), atau campuran Selen;
b) Larutan indikator *methyl red* (MR) /*bromocresol green* (BCG);
larutkan 0,2 g *methyl red* dengan etanol 95 % menjadi 100 mL. Larutkan 1,0 g *bromocresol green* dengan etanol 95 % menjadi 500 mL. Campurkan 1 bagian larutan *methyl red* dan 5 bagian larutan *bromocresol green* dalam gelas piala lalu pindahkan ke dalam botol bertutup gelas.
c) Larutan asam borat (H_3BO_3) 4 %;
timbang 4 g H_3BO_3, larutkan ke dalam air yang mengandung 0,7 mL larutan indikator *methyl red* 1 % *bromocresol green* 1 %, encerkan hingga 100 mL, aduk, (larutan akan berwarna kuning terang) dan pindahkan ke dalam botol bertutup gelas.

“Hak Cipta Badan Standardisasi Nasional, copy standar ini dibuat untuk penayangan di website Akses SNI dan tidak untuk dikomersilkan"

d) Larutan natrium hidroksida (NaOH);
larutkan 30 g hablur NaOH dengan air suling menjadi 100 mL, simpan ke dalam botol bertutup karet.

e) Larutan standar asam klorida, HCl 0,2 M;

f) Larutan asam sulfat, H_2SO_4 pekat;

g) Batu didih.

A.3.4 Cara kerja

a) Timbang secara teliti 1 sampai dengan 2 g contoh (W) ke dalam labu *Kjeldahl*, tambahkan 2 katalis tablet atau 1 g campuran katalis selen, 8 sampai dengan 10 batu didih dan 25 mL H_2SO_4 pekat;

b) panaskan campuran dalam pemanas listrik sampai mendidih dan larutan menjadi jernih kehijau-hijauan. Lakukan dalam lemari asam atau lengkapi alat destruksi dengan unit pengisapan asap;

c) biarkan dingin, kemudian encerkan dengan air suling secukupnya;

d) tambahkan 50 sampai dengan 75 mL larutan NaOH 30 % (periksa dengan indikator PP sehingga campuran menjadi basa);

e) suling selama 5 menit sampai dengan10 menit atau saat larutan destilat telah mencapai kira-kira 150 mL, dengan penampung destilat adalah 50 mL larutan H_3BO_3 4 %;

f) bilas ujung pendingin dengan air suling;

g) titar larutan campuran destilat dengan larutan HCl 0,2 M; dan

h) kerjakan penetapan blanko.

A.3.5 Perhitungan

$$\text{Kadar protein (\%)} = \frac{(V_1 - V_2) \times N \times 14{,}007 \times 6{,}25 \times 100\%}{W}$$

Keterangan:

V_1 adalah volume HCl 0,2 N untuk titrasi contoh, dinyatakan dalam mililiter (mL);
V_2 adalah volume HCl 0,2 N untuk titrasi blanko, dinyatakan dalam mililiter (mL);
N adalah normalitas larutan HCl, dinyatakan dalam Normalitas (N);
W adalah bobot contoh, dinyatakan dalam miligram (mg);
14,007 adalah bobot atom Nitrogen;
6,25 adalah faktor protein untuk kecap.

A.3.6 Ketelitian

Kisaran hasil dua kali ulangan maksimal 5 % dari nilai rata-rata hasil kadar protein. Jika kisaran lebih besar dari 5 %, maka uji harus diulang kembali.

A.4 Total Garam (NaCl)

A.4.1 Prinsip

Contoh diabukan pada suhu 550 °C sampai dengan 600 °C, diikuti dengan pelarutan abu yang tersisa, ion Cl dalam larutan kemudian dititar langsung dengan perak nitrat 0,1 N.

"Hak Cipta Badan Standardisasi Nasional, copy standar ini dibuat untuk penayangan di website Akses SNI dan tidak untuk dikomersilkan"

A.4.2 Peralatan

a) Tanur 550 °C sampai dengan 600 °C terkalibrasi;
b) Neraca analitis dengan ketelitian 0,1 mg terkalibrasi;
c) Erlenmeyer flask 250 mL;
d) Cawan porselen;
e) Pipet volumetrik 10 mL terkalibrasi;
f) Buret terkalibrasi;
g) Labu ukur 100 mL terkalibrasi;
h) Penangas listrik.

A.4.3 Pereaksi

a) Air suling panas;
b) Larutan perak nitrat ($AgNO_3$) 0,1 N;
 larutkan 17 g $AgNO_3$ ke dalam air menjadi 1 000 mL .
c) larutan kalium kromat (K_2CrO_4) 5 %;
 larutkan 5 g K_2CrO_4 ke dalam menjadi 100 mL air.
d) Kertas saring.

A.4.4 Cara kerja

a) Timbang dengan teliti 5 g contoh ke dalam cawan porselin;
b) arangkan pada penangas listrik sampai tidak berasap, kemudian abukan dalam tanur pada suhu 550 °C sampai dengan 600 °C sampai diperoleh abu warna putih;
c) larutkan abu yang diperoleh dengan air suling panas, dinginkan dan masukkan ke dalam labu ukur 100 mL dan encerkan dengan air suling sampai tanda garis, kocok lalu saring dengan kertas saring jika perlu;
d) pipet 10,0 mL hasil saring dan masukkan dalam erlenmeyer 250 mL, tambahkan air suling jadikan volume kira-kira 100 mL;
e) tambahkan 5 tetes larutan indikator K_2CrO_4 5 % lalu titrasi dengan larutan $AgNO_3$ 0,1 N sampai terbentuk pertamakali warna merah bata;
f) kerjakan blanko dengan 10 mL air suling.

A.4.5 Perhitungan

$$\%NaCl = \frac{(V_1 - V_2)\ x\ N\ x\ 58{,}45\ x\ fp\ x\ 100\%}{W}$$

Keterangan

V_1 adalah volume $AgNO_3$ 0,1 N untuk titrasi contoh, dinyatakan dalam mililiter (mL);
V_2 adalah volume $AgNO_3$ 0,1 N untuk titrasi blanko, dinyatakan dalam mililiter (mL);
N adalah normalitas larutan $AgNO_3$, dinyatakan dengan Normalitas (N);
fp adalah faktor pengeceran;
W adalah bobot contoh, dinyatakan dalam miligram (mg);
58,45 adalah bobot setara NaCl.

"Hak Cipta Badan Standardisasi Nasional, copy standar ini dibuat untuk penayangan di website Akses SNI dan tidak untuk dikomersilkan"

A.4.6 Ketelitian

Kisaran hasil dua kali ulangan maksimal 5 % dari nilai rata-rata hasil total garam. Jika kisaran lebih besar dari 5 %, maka uji harus diulang kembali.

A.5 pH

A.5.1 Prinsip

Cara pengukuran pH menggunakan pH meter yang pada prinsipnya terdiri dari gabungan elektroda gelas hidrogen sebagai standar polimer dan *Referensi Elektroda Kalomel*. Pasangan elektroda ini akan menghasilkan perubahan tegangan 59,1 mv/pH unit pada 25 °C.

A.5.2 Peralatan

a) pH meter;

b) Gelas elektroda;

c) Pengaduk magnetik; dan

d) Pengatur suhu contoh.

A.5.3 Cara kerja

a) Kalibrasi pH meter dengan larutan buffer pH 4 dan pH 7, lakukan setiap saat akan melakukan pengukuran;

b) celupkan elektroda yang telah dibersihkan dengan air suling ke dalam contoh yang akan diperiksa. Suhu contoh pada saat pemeriksaan diatur pada suhu 25 °C;

c) catat dan baca nilai pH pada skala pH meter yang ditunjukkan sampai satu desimal.

A.6 Cemaran logam

A.6.1 Kadmium (Cd) dan Timbal (Pb)

A.6.1.1 Prinsip

Destruksi contoh dengan cara pengabuan kering pada 450 °C yang dilanjutkan dengan pelarutan dalam larutan asam. Logam yang terlarut dihitung menggunakan alat Spektrofotometer Serapan Atom (SSA) dengan panjang gelombang maksimal 228,8 nm untuk Cd dan 283,3 nm untuk Pb.

A.6.1.2 Peralatan

a) Spektrofotometer Serapan Atom (SSA) beserta kelengkapannya (lampu katoda Cd dan Pb) terkalibrasi (sebaiknya menggunakan SSA tungku grafit);

b) Tanur terkalibrasi dengan ketelitian 1 °C;

c) Neraca analitik terkalibrasi dengan ketelitian 0,1 mg;

d) Pemanas listrik;

e) Penangas air;

f) Pipet ukur berskala 0,05 mL atau mikro buret terkalibrasi;

"Hak Cipta Badan Standardisasi Nasional, copy standar ini dibuat untuk penayangan di website Akses SNI dan tidak untuk dikomersilkan"

g) Labu ukur 1 000 mL, 100 mL, dan 50 mL, terkalibrasi;

h) Gelas ukur 10 mL;

i) Gelas piala 250 mL;

j) Botol polipropilen;

k) Cawan porselen/platina/kwarsa 50 mL sampai dengan 100 mL; dan

l) Kertas saring tidak berabu dengan *particle retention* 20 µm sampai dengan 25 µm.

A.6.1.3 Pereaksi

a) Asam nitrat, HNO_3 pekat;

b) Asam klorida, HCl pekat;

c) Larutan asam nitrat, HNO_3 0,1 N;
encerkan 7 mL HNO_3 pekat dengan aquabides dalam labu ukur 1 000 mL sampai tanda garis.

d) Larutan asam klorida, HCl 6 N;
encerkan 500 mL HCl pekat dengan aquabides dalam labu ukur 1 000 mL sampai tanda garis.

e) Larutan baku 1 000 µg/mL Cd;
larutkan 1,000 g Cd dengan 7 mL HNO_3 pekat dalam gelas piala 250 mL dan masukkan ke dalam labu ukur 1 000 mL kemudian encerkan dengan aquabides sampai tanda garis. Alternatif lain, bisa digunakan larutan baku Cd 1 000 µg/mL siap pakai.

f) Larutan baku 200 µg/mL Cd;
pipet 10 mL larutan baku 1000 µg/mL Cd ke dalam labu ukur 50 mL kemudian encerkan dengan aquabides sampai tanda garis kemudian dikocok. Larutan baku kedua ini memiliki konsentrasi 200 µg/mL Cd.

g) Larutan baku 20 µg/mL Cd;
pipet 10 mL larutan baku 200 µg/mL Cd ke dalam labu ukur 100 mL kemudian encerkan dengan aquabides sampai tanda garis kemudian dikocok. Larutan baku ketiga ini memiliki konsentrasi 20 µg/mL Cd.

h) Larutan baku kerja Cd;
pipet ke dalam labu ukur 100 mL masing-masing sebanyak 0 mL, 0,5 mL, 1 mL; 2 mL; 4 mL; 7 mL dan 9 mL larutan baku 20 µg/mL kemudian tambahkan 5 mL larutan HNO_3 1 N atau HCl 6 N, dan encerkan dengan aquabides sampai tanda garis kemudian kocok. Larutan baku kerja ini memiliki konsentrasi 0 µg/mL; 0,1 µg/mL; 0,2 µg/mL; 0,4 µg/mL; 0,8 µg/mL; 1,4 µg/mL dan 1,8 µg/mL Cd.

i) Larutan baku 1 000 µg/mL Pb;
larutkan 1,000 g Pb dengan 7 mL HNO_3 pekat dalam gelas piala 250 mL dan masukkan ke dalam labu ukur 1 000 mL kemudian encerkan dengan aquabides sampai tanda garis. Alternatif lain, bisa digunakan larutan baku Pb 1 000 µg/mL siap pakai.

j) Larutan baku 50 µg/mL Pb; dan
pipet 5,0 mL larutan baku 1 000 µg/mL Pb ke dalam labu ukur 100 mL dan encerkan dengan aquabides sampai tanda garis kemudian kocok. Larutan baku kedua ini memiliki konsentrasi Pb 50 µg/mL.

k) Larutan baku kerja Pb;
pipet ke dalam labu ukur 100 mL masing-masing sebanyak 0 mL, 0,2 mL; 0,5 mL; 1 mL; 2 mL; 3 mL dan 4 mL larutan baku 50 µg/mL kemudian tambahkan 5 mL larutan HNO_3 1 N atau HCl 6 N, dan encerkan dengan aquabides sampai tanda garis kemudian

"Hak Cipta Badan Standardisasi Nasional, copy standar ini dibuat untuk penayangan di website Akses SNI dan tidak untuk dikomersilkan"

kocok. Larutan baku kerja ini memiliki konsentrasi 0 µg/mL; 0,1 µg/mL; 0,25 µg/mL; 0,5 µg/mL; 1,0 µg/mL; 1,5 µg/mL dan 2,0 µg/mL PA.

A.6.1.4 Cara kerja

a) Timbang 10 g sampai dengan 20 g contoh (m) dengan teliti dalam cawan porselen/platina/kuarsa;

b) tempatkan cawan berisi contoh di atas pemanas listrik dan panaskan secara bertahap sampai contoh tidak berasap lagi;

c) lanjutkan pengabuan dalam tanur (450 ± 5) °C sampai abu berwarna putih, bebas dari karbon;

d) apabila abu belum bebas dari karbon yang ditandai dengan warna keabu-abuan, basahkan dengan beberapa tetes air dan tambahkan tetes demi tetes HNO_3 pekat kira-kira 0,5 mL sampai dengan 3 mL;

e) keringkan cawan di atas pemanas listrik dan masukkan kembali ke dalam tanur pada suhu (450 ± 5) °C kemudian lanjutkan pemanasan sampai abu menjadi putih. Penambahan HNO_3 pekat dapat diulangi apabila abu masih berwarna keabu-abuan;

f) larutkan abu berwarna putih dalam 5 mL HCl 6 N, sambil dipanaskan di atas pemanas listrik atau penangas air sampai kering, kemudian larutkan dengan HNO_3 0,1 N dan masukkan ke dalam labu ukur 50 mL kemudian tepatkan hingga tanda garis dengan air suling (V), jika perlu, saring larutan menggunakan kertas saring, ke dalam botol polipropilen;

g) siapkan larutan blanko dengan penambahan pereaksi dan perlakuan yang sama seperti contoh;

h) baca absorbans larutan baku kerja dan larutan contoh terhadap blanko menggunakan SSA pada panjang gelombang maksimal sekitar 228,8 nm untuk Cd dan 283 nm untuk Pb;

i) buat kurva kalibrasi antara konsentrasi logam (µg/mL) sebagai sumbu X dan absorbans sebagai sumbu Y;

j) plot hasil pembacaan larutan contoh terhadap kurva kalibrasi (C); dan

k) hitung kandungan logam dalam contoh.

A.6.1.5 Perhitungan

$$\text{Kandungan logam (mg/kg)} = \frac{C}{m} \times V$$

Keterangan:
C adalah konsentrasi logam dari kurva kalibrasi, dinyatakan dalam mikrogram per mililiter (µg/mL);
V adalah volume larutan akhir, dinyatakan dalam mililiter (mL);
m adalah bobot contoh, dinyatakan dalam gram (g).

A.6.1.6 Ketelitian

Kisaran hasil dua kali ulangan maksimal 16 % dari nilai rata-rata hasil kandungan logam. Jika kisaran lebih besar dari 16 %, maka uji harus diulang kembali.

"Hak Cipta Badan Standardisasi Nasional, copy standar ini dibuat untuk penayangan di website Akses SNI dan tidak untuk dikomersilkan"

"Hak Cipta Badan Standardisasi Nasional, copy standar ini dibuat untuk penayangan di website Akses SNI dan tidak untuk dikomersilkan"

A.6.2 Timah (Sn)

A.6.2.1 Prinsip

Contoh didestruksi dengan HNO_3 dan HCl kemudian tambahkan KCl untuk mengurangi gangguan. Sn dibaca menggunakan Spektrofotometer Serapan Atom (SSA) pada panjang gelombang maksimal 235,5 nm dengan nyala oksidasi N_2O-C_2H_2.

A.6.2.2 Peralatan

a) Spektrofotometer Serapan Atom (SSA) beserta kelengkapannya (lampu katoda Sn) terkalibrasi;
b) Tanur terkalibrasi dengan ketelitian 1 ºC;
c) Neraca analitik terkalibrasi dengan ketelitian 0,1 mg;
d) Pemanas listrik;
e) Penangas air;
f) Labu ukur 1 000 mL, 100 mL, dan 50 mL, terkalibrasi;
g) Pipet ukur 10 mL dan 5 mL, berskala 0,1 mL, terkalibrasi;
h) Erlenmeyer 250 mL;
i) Gelas ukur 50 mL; dan
j) Gelas piala 250 mL.

A.6.2.3 Pereaksi

a) Larutan kalium klorida (KCl) 10 mg/mL K;
larutkan 1,91 g KCl dengan air suling menjadi 100 mL.
b) Asam nitrat (HNO_3) pekat;
c) Asam klorida (HCl) pekat;
d) Larutan baku 1 000 µg/mL Sn; dan
larutkan 1,000 g Sn dengan 200 mL HCl pekat dalam labu ukur 1 000 mL, tambahkan 200 mL air suling, dinginkan pada suhu ruang dan encerkan dengan air suling sampai tanda garis.
e) Larutan baku kerja Sn.
pipet 10 mL HCl pekat dan 1,0 mL larutan KCl ke dalam masing-masing labu ukur 100 mL. Tambahkan masing-masing 0 mL; 0,5 mL; 1,0 mL; 1,5 mL; 2,0 mL dan 2,5 mL larutan baku 1 000 µg/mL Sn dan encerkan dengan air suling sampai tanda garis. Larutan baku kerja ini memiliki konsentrasi 0 µg/mL; 5 µg/mL; 10 µg/mL; 15 µg/mL; 20 µg/mL dan 25 µg/mL Sn.

A.6.2.4 Cara kerja

a) Timbang 5 g sampai dengan 10 g contoh (W) dengan teliti ke dalam Erlenmeyer 250 mL, keringkan dalam oven 120 °C, tambahkan 30 mL HNO_3 pekat dan biarkan 15 menit (jangan tambahkan HNO_3 ke dalam contoh jika tahapan destruksi tidak dapat diselesaikan dalam hari yang sama);
b) panaskan perlahan selama 15 menit di dalam lemari asam, hindari terjadinya percikan yang berlebihan;

c) lanjutkan pemanasan sehingga sisa volume 3 mL sampai dengan 6 mL atau sampai contoh mulai kering pada bagian bawahnya, hindari terbentuknya arang;

d) angkat Erlenmeyer dari pemanas listrik, tambahkan 25 mL HCl pekat, dan panaskan selama 15 menit sampai letupan dari uap Cl_2 berhenti;

e) tingkatkan pemanasan dan didihkan sehingga sisa volume 10 mL sampai dengan 15 mL;

f) tambahkan 40 mL air suling, aduk, dan tuangkan ke dalam labu ukur 100 mL, bilas Erlenmeyer tersebut dengan 10 mL aquabides (V);

g) tambahkan 1,0 mL KCl, dinginkan pada suhu ruang, tepatkan dengan air suling sampai tanda garis dan saring;

h) siapkan larutan blanko dengan penambahan pereaksi dan perlakuan yang sama seperti contoh;

i) baca absorbansi larutan baku kerja dan larutan contoh terhadap blanko menggunakan SSA pada panjang gelombang maksimal 235,5 nm dengan nyala oksidasi N_2O-C_2H_2;

j) buat kurva kalibrasi antara konsentrasi logam (µg/mL) sebagai sumbu X dan absorbansi sebagai sumbu Y;

k) plot hasil pembacaan larutan contoh terhadap kurva kalibrasi (C);

l) lakukan pengerjaan duplo; dan

m) hitung kandungan Sn dalam contoh;

A.6.2.5 Perhitungan

$$\text{Kandungan timah (Sn)}(mg/kg) = \frac{C}{W} \times V$$

Keterangan:

C adalah konsentrasi timah (Sn) dari kurva kalibrasi, dinyatakan dalam mikrogram per mililiter (µg/mL)

V adalah volume larutan akhir, dinyatakan dalam mililiter (mL); dan

W adalah bobot contoh, dinyatakan dalam gram (g).

A.6.2.6 Ketelitian

Kisaran hasil dua kali ulangan maksimal 16 % dari nilai rata-rata hasil kandungan timah (Sn). Jika kisaran lebih besar dari 16 %, maka uji harus diulang kembali.

A.6.3 Merkuri (Hg)

A.6.3.1 Prinsip

Reaksi antara senyawa merkuri dengan $NaBH_4$ atau $SnCl_2$ dalam keadaan asam akan membentuk gas atomik Hg. Jumlah Hg yang terbentuk sebanding dengan absorbansi Hg yang dibaca menggunakan Spektrofotometer Serapan Atom (SSA) tanpa nyala pada panjang gelombang maksimal 253,7 nm.

A.6.3.2 Peralatan

a) Spektrofotometer Serapan Atom (SSA) yang dilengkapi lampu katoda Hg dan generator uap hidrida (HVG) terkalibrasi;

b) *Microwave digester*;

c) Neraca analitik terkalibrasi dengan ketelitian 0,1 mg;

"Hak Cipta Badan Standardisasi Nasional, copy standar ini dibuat untuk penayangan di website Akses SNI dan tidak untuk dikomersilkan"

d) Pemanas listrik;

e) Pendingin terbuat dari borosilikat, diameter 12 mm sampai dengan 18 mm, tinggi 400 mm diisi dengan cincin *Raschig* setinggi 100 mm, dan dilapisi dengan batu didih berdiameter 4 mm di atas cincin setinggi 20 mm;

f) Tabung destruksi;

g) Labu destruksi 250 mL berdasar bulat;

h) Labu ukur 1 000 mL, 500 mL, 100 mL, dan 50 mL terkalibrasi;

i) Gelas ukur 25 mL;

j) Pipet ukur berskala 0,05 mL atau mikro buret terkalibrasi; dan

k) Gelas piala 500 ml.

A.6.3.3 Pereaksi

a) Larutan asam sulfat (H_2SO_4) 9 M;

b) Larutan asam nitrat (HNO_3) 7 M;

c) Campuran asam nitrat: asam perklorat (HNO_3 : $HClO_4$,) 1:1;

d) Hidrogen peroksida (H_2O_2) pekat;

e) Larutan natrium molibdat ($NaMoO_4.7H_2O$) 2 %;

f) Larutan pereduksi;
campurkan 50 mL H_2SO_4 dengan 300 mL air suling dalam gelas piala 500 mL dan dinginkan sampai suhu ruang kemudian tambahkan 15 g NaCl, 15 g hidroksilamin sulfat, dan 25 g $SnCl_2$. Pindahkan ke dalam labu ukur 500 mL dan encerkan dengan air suling sampai tanda garis.

g) Larutan natrium borohidrida ($NaBH_4$);
larutkan 3 g serbuk $NaBH_4$ dan 3 g NaOH dengan air suling dalam labu ukur 500 mL.

h) Larutan pengencer;
masukkan 300 mL sampai dengan 500 mL air suling ke dalam labu ukur 1 000 mL dan tambahkan 58 mL HNO_3 kemudian tambahkan 67 mL H_2SO_4. Encerkan dengan air suling sampai tanda garis dan kocok.

i) Larutan baku 1 000 µg/mL Hg;
larutkan 0,135 4 g $HgCl_2$ dengan kira-kira 25 mL air suling dalam gelas piala 250 mL dan masukkan ke dalam labu ukur 100 mL kemudian encerkan dengan air suling sampai tanda garis.

j) Larutan baku 1 µg/mL Hg; dan
pipet 1 mL larutan baku 1 000 µg/mL Hg ke dalam labu ukur 1 000 mL dan encerkan dengan larutan pengencer sampai tanda garis, kemudian kocok. Larutan baku kedua ini memiliki konsentrasi 1 µg/mL.

k) Larutan baku kerja Hg; dan
pipet masing-masing 0,25 mL; 0,5 mL; 1 mL; dan 2 mL larutan baku 1 µg/mL ke dalam labu ukur 100 mL terpisah dan encerkan dengan larutan pengencer sampai tanda garis. Larutan baku kerja ini memiliki konsentrasi 0,002 5 µg/mL; 0,005 µg/mL; 0,01 µg/mL; 0,02 µg/mL Hg.

l) Batu didih.

"Hak Cipta Badan Standardisasi Nasional, copy standar ini dibuat untuk penayangan di website Akses SNI dan tidak untuk dikomersilkan"

A.6.3.4 Cara kerja

A.6.3.4.1 Pengabuan basah

a) Timbang 5 g contoh (W) dengan teliti ke dalam labu destruksi dan tambahkan 25 mL H_2SO_4 9 M, 20 mL HNO_3 7 M, 1 mL larutan natrium molibdat 2 %, dan 5 butir sampai dengan 6 butir batu didih;

b) hubungkan labu destruksi dengan pendingin dan panaskan di atas pemanas listrik selama 1 jam. Hentikan pemanasan dan biarkan selama 15 menit;

c) tambahkan 20 mL campuran asam nitrat: asam perklorat (HNO_3 : $HClO_4$) 1:1 melalui pendingin;

d) hentikan aliran air pada pendingin dan panaskan dengan panas tinggi hingga timbul uap putih. Lanjutkan pemanasan selama 10 menit dan dinginkan;

e) tambahkan 10 mL air suling melalui pendingin dengan hati-hati sambil labu digoyang-goyangkan;

f) didihkan lagi selama 10 menit;

g) matikan pemanas listrik dan cuci pendingin dengan 15 mL air suling sebanyak 3 kali kemudian dinginkan sampai suhu ruang;

h) pindahkan larutan destruksi contoh ke dalam labu ukur 100 mL secara kuantitatif dan encerkan dengan air suling sampai tanda garis (V);

i) pipet 25 mL larutan di atas ke dalam labu ukur 100 mL dan encerkan dengan larutan pengencer sampai tanda garis;

j) siapkan larutan blanko dengan penambahan pereaksi dan perlakuan yang sama seperti contoh;

k) tambahkan larutan pereduksi ke dalam larutan baku kerja Hg, larutan contoh, dan larutan blanko pada alat HVG;

l) baca absorbansi larutan baku kerja, larutan contoh, dan larutan blanko menggunakan SSA tanpa nyala pada panjang gelombang 253,7 nm;

m) buat kurva kalibrasi antara konsentrasi logam (µg/mL) sebagai sumbu X dan absorbansi sebagai sumbu Y;

n) plot hasil pembacaan larutan contoh terhadap kurva kalibrasi (C);

o) lakukan pengerjaan duplo; dan

p) hitung kandungan Hg dalam contoh.

A.6.3.4.2 Destruksi menggunakan *microwave digester* atau destruksi sistem tertutup

a) Timbang 1 g contoh (W) ke dalam tabung destruksi dan tambahkan 5 mL HNO_3, 1 mL H_2O_2 kemudian tutup rapat;

b) masukkan ke dalam *microwave digester* dan kerjakan sesuai dengan petunjuk pemakaian alat;

c) pindahkan larutan destruksi contoh ke dalam labu ukur 50 mL secara kuantitatif dan encerkan dengan air suling sampai tanda garis (V);

d) siapkan larutan blanko dengan penambahan pereaksi dan perlakuan yang sama seperti contoh;

"Hak Cipta Badan Standardisasi Nasional, copy standar ini dibuat untuk penayangan di website Akses SNI dan tidak untuk dikomersilkan"

e) tambahkan larutan pereduksi ke dalam larutan baku kerja, larutan contoh, dan larutan blanko pada alat HVG;

f) baca absorban larutan baku kerja, larutan contoh, dan larutan blanko menggunakan SSA tanpa nyala pada panjang gelombang 253,7 nm;

g) buat kurva kalibrasi antara konsentrasi logam (µg/mL) sebagai sumbu X dan absorbansi sebagai sumbu Y;

h) plot hasil pembacaan larutan contoh terhadap kurva kalibrasi (C);

i) lakukan pengerjaan duplo; dan

j) hitung kandungan Hg dalam contoh.

A.6.3.5 Perhitungan

$$\text{Kandungan merkuri (Hg)}(mg/kg) = \frac{C}{W} \times V \times fp$$

Keterangan:

C adalah konsentrasi merkuri (Hg) dari kurva kalibrasi, dinyatakan dalam mikrogram per mililiter (µg/mL);

V adalah volume larutan akhir, dinyatakan dalam mililiter (mL);

W adalah bobot contoh, dinyatakan dalam gram (g);

fp adalah faktor pengenceran.

A.6.3.6 Ketelitian

Kisaran hasil dua kali ulangan maksimal 16 % dari nilai rata-rata hasil kandungan merkuri (Hg). Jika kisaran lebih besar dari 16 %, maka uji harus diulang kembali.

A.7 Cemaran arsen (As)

A.7.1 Prinsip

Contoh didestruksi dengan asam menjadi larutan arsen. Larutan As^{5+} direduksi dengan KI menjadi As^{3+} dan direaksikan dengan $NaBH_4$ atau $SnCl_2$ sehingga terbentuk AsH_3 yang kemudian dibaca dengan Spektrofotometer Serapan Atom (SSA) pada panjang gelombang maksimal 193,7 nm.

A.7.2 Peralatan

a) Spektrofotometer Serapan Atom (SSA) yang dilengkapi dengan lampu katoda As dan generator uap hidrida (HVG) terkalibrasi;

b) Tanur terkalibrasi dengan ketelitian 1 °C;

c) *Microwave digester*;

d) Neraca analitik terkalibrasi dengan ketelitian 0,1 mg;

e) Pemanas listrik;

f) *Burner* atau *bunsen*;

g) Labu *Kjeldahl* 250 mL;

h) Labu terbuat dari borosilikat berdasar bulat 50 mL;

"Hak Cipta Badan Standardisasi Nasional, copy standar ini dibuat untuk penayangan di website Akses SNI dan tidak untuk dikomersilkan"

i) Labu ukur 1 000 mL, 500 mL, 100 mL, dan 50 mL terkalibrasi;
j) Gelas ukur 25 mL;
k) Pipet volumetrik 25 mL terkalibrasi;
l) Pipet ukur berskala 0,05 mL atau mikro buret terkalibrasi;
m) Cawan porselen 50 mL; dan
n) Gelas piala 200 mL.

A.7.3 Pereaksi

a) Asam nitrat, HNO_3 pekat;
b) Asam sulfat, H_2SO_4 pekat;
c) Asam perklorat, $HClO_4$ pekat;
d) Ammonium oksalat, $(NH_4)_2C_2O_4$ jenuh;
e) Hidrogen peroksida, H_2O_2 pekat;
f) Larutan natrium borohidrida, $NaBH_4$ 4 %;
larutkan 3 g $NaBH_4$ dan 3 g NaOH dengan air suling sampai tanda garis dalam labu ukur 500 mL.
g) Larutan asam klorida, HCl 8 M;
larutkan 66 mL HCl pekat kedalam labu ukur 100 mL dan encerkan dengan air suling sampai tanda garis.
h) Larutan timah (II) klorida, $SnCl_2.2H_2O$ 10 %;
timbang 50 g $SnCl_2.2H_2O$ ke dalam gelas piala 200 mL dan tambahkan 100 mL HCl pekat. Panaskan hingga larutan jernih dan dinginkan kemudian tuangkan ke dalam labu ukur 500 mL dan encerkan dengan air suling sampai tanda garis.
i) Larutan kalium iodida, KI 20 %;
timbang 20 g KI ke dalam labu ukur 100 mL dan encerkan dengan air suling sampai tanda garis (larutan harus dibuat langsung sebelum digunakan).
j) Larutan $Mg(NO_3)_2$ 75 mg/mL;
larutkan 3,75 g MgO dengan 30 mL H_2O secara hati-hati, tambahkan 10 mL HNO_3, dinginkan dan encerkan hingga 50 mL dengan air suling;
k) Larutan baku 1 000 µg/mL As;
larutkan 1,320 3 g As_2O_3 kering dengan sedikit NaOH 20 % dan netralkan dengan HCl atau HNO_3 1:1 (1 bagian asam : 1 bagian air). Masukkan ke dalam labu ukur 1 000 mL dan encerkan dengan air suling sampai tanda garis.
l) Larutan baku 100 µg/mL As;
pipet 10 mL larutan baku As 1 000 µg/mL ke dalam labu ukur 100 mL dan encerkan dengan air suling sampai tanda garis. Larutan baku kedua ini memiliki konsentrasi 100 µg/mL As.
m) Larutan baku 1 µg/mL As; dan
pipet 1 mL larutan baku As 100 µg/mL ke dalam labu ukur 100 mL dan encerkan dengan air suling sampai tanda garis. Larutan baku ketiga ini memiliki konsentrasi 1 µg/mL As.
n) Larutan baku kerja As.
pipet masing-masing 1,0 mL; 2,0 mL; 3,0 mL; 4,0 mL dan 5,0 mL larutan baku 1 µg/mL As ke dalam labu ukur 100 mL terpisah dan encerkan dengan air suling sampai tanda garis kemudian kocok Larutan baku kerja ini memiliki konsentrasi 0,01 µg/mL; 0,02 µg/mL; 0,03 µg/mL; 0,04 µg/mL dan 0,05 µg/mL As.

"Hak Cipta Badan Standardisasi Nasional, copy standar ini dibuat untuk penayangan di website Akses SNI dan tidak untuk dikomersilkan"

A.7.4 Cara kerja

A.7.4.1 Pengabuan basah

a) Timbang 5 g sampai dengan 10 g contoh (W) ke dalam labu *Kjeldahl* 250 mL, tambahkan 5 mL sampai dengan 10 mL HNO_3 pekat dan 4 mL sampai dengan 8 mL H_2SO_4 pekat dengan hati-hati;

b) setelah reaksi selesai, panaskan dan tambahkan HNO_3 pekat sedikit demi sedikit sehingga contoh berwarna coklat atau kehitaman;

c) tambahkan 2 mL $HClO_4$ 70 % sedikit demi sedikit dan panaskan lagi sehingga larutan menjadi jernih atau berwarna kuning (jika terjadi pengarangan setelah penambahan $HClO_4$, tambahkan lagi sedikit HNO_3 pekat);

d) dinginkan, tambahkan 15 mL H_2O dan 5 mL $(NH_4)_2C_2O_4$ jenuh;

e) panaskan sehingga timbul uap SO_3 di leher labu;

f) dinginkan, pindahkan secara kuantitatif ke dalam labu ukur 50 mL dan encerkan dengan air suling sampai tanda garis (V);

g) pipet 25 mL larutan diatas dan tambahkan 2 mL HCl 8 M, 0,1 mL KI 20 % kemudian kocok dan biarkan minimal 2 menit;

h) siapkan larutan blanko dengan penambahan pereaksi dan perlakuan yang sama seperti contoh;

i) tambahkan larutan pereduksi ($NaBH_4$) ke dalam larutan baku kerja As, larutan contoh, dan larutan blanko pada alat HVG;

j) baca absorbansi larutan baku kerja, larutan contoh, dan larutan blanko menggunakan SSA tanpa nyala pada panjang gelombang 193,7 nm;

k) buat kurva kalibrasi antara konsentrasi logam (µg/mL) sebagai sumbu X dan absorbansi sebagai sumbu Y;

l) plot hasil pembacaan larutan contoh terhadap kurva kalibrasi (C);

m) lakukan pengerjaan duplo; dan

n) hitung kandungan As dalam contoh.

A.7.4.2 Destruksi menggunakan *microwave digester* atau destruksi sistem tertutup

a) Timbang 1 g contoh (W) ke dalam tabung destruksi dan tambahkan 5 mL HNO_3, 1 mL H_2O_2 kemudian tutup rapat.

b) masukkan ke dalam *microwave digester* dan kerjakan sesuai dengan petunjuk pemakaian alat;

c) setelah dingin, pindahkan larutan destruksi ke dalam labu ukur 25 mL secara kuantitatif dan encerkan dengan air suling sampai tanda garis (V);

d) pipet 10 mL larutan destruksi ke dalam labu borosilikat berdasar bulat 50 mL, tambahkan 1 mL larutan $Mg(NO_3)_2$, Uapkan di atas pemanas listrik hingga kering dan arangkan. Abukan dalam tanur dengan suhu 450 °C (± 1 jam);

e) dinginkan, larutkan dengan 2,0 mL HCl 8 M, 0.1 mL KI 20 % dan biarkan minimal 2 menit. Tuangkan larutan tersebut ke dalam tabung contoh pada alat;

f) siapkan $NaBH_4$ dan HCl dalam tempat yang sesuai dengan yang ditentukan oleh alat;

"Hak Cipta Badan Standardisasi Nasional, copy standar ini dibuat untuk penayangan di website Akses SNI dan tidak untuk dikomersilkan"

g) tuangkan larutan baku kerja As 0,01 µg/mL; 0,02 µg/mL; 0,03 µg/mL; 0,04 µg/mL; 0,05 µg/mL serta blanko ke dalam 6 tabung contoh lainnya. Nyalakan *burner* atau *bunsen* serta tombol pengatur aliran pereaksi dan aliran contoh;

h) baca nilai absorbansi tertinggi larutan baku kerja As dan contoh dengan blanko sebagai koreksi;

i) buat kurva kalibrasi antara konsentrasi As (µg/mL) sebagai sumbu X dan absorbansi sebagai sumbu Y;

j) plot hasil pembacaan larutan contoh terhadap kurva kalibrasi (C);

k) lakukan pengerjaan duplo; dan

l) hitung kandungan As dalam contoh.

A.7.5 Perhitungan

$$\text{Kandungan arsen (As)}(mg/kg) = \frac{C}{W} \times V \times fp$$

Keterangan:

C adalah konsentrasi arsen (As) dari kurva kalibrasi, dinyatakan dalam mikrogram per miliiliter (µg/mL)
V adalah volume larutan akhir, dinyatakan dalam mililiter (mL);
W adalah bobot contoh, dinyatakan dalam gram (g);
fp adalah faktor pengenceran.

A.7.6 Ketelitian

Kisaran hasil dua kali ulangan maksimal 16 % dari nilai rata-rata hasil kandungan arsen (As). Jika kisaran lebih besar dari 16 %, maka uji harus diulang kembali.

A.8 Cemaran mikroba

A.8.1 Persiapan dan homogenisasi contoh untuk uji Coliform

A.8.1.1 Prinsip

Pembebasan sel-sel bakteri yang mungkin terlindung oleh partikel makanan dan untuk menggiatkan kembali sel-sel bakteri yang mungkin viabilitasnya berkurang karena kondisi yang kurang menguntungkan dalam makanan. Persiapan dan homogenisasi contoh bertujuan agar bakteri terdistribusi dengan baik di dalam contoh makanan yang ditetapkan.

A.8.1.2 Peralatan

a) Alat homogenisasi (blender) dengan kecepatan 10 000 rpm sampai dengan 12 000 rpm;
b) Otoklaf;
c) Neraca kapasitas 2 000 g terkalibrasi dengan ketelitian 0,1 g;
d) Pemanas listrik;
e) Labu ukur 1 000 mL, 500 mL, 100 mL, dan 50 mL terkalibrasi;
f) Gelas piala steril;
g) Erlenmeyer steril;
h) Botol pengencer steril;

"Hak Cipta Badan Standardisasi Nasional, copy standar ini dibuat untuk penayangan di website Akses SNI dan tidak untuk dikomersilkan"

i) Pipet volumetrik steril 10,0 mL dan 1,0 mL terkalibrasi, dilengkapi dengan *bulb* dan *pipettor*;

j) Tabung reaksi; dan

k) Sendok, gunting, dan spatula steril.

A.8.1.3 Larutan Pengencer

Butterfield's Phosphate-Buffered Dilution Water (BPB);

- KH_2PO_4	34	g
- Air suling	500	mL

Atur pH dengan NaOH sehingga mencapai pH 7,2, tepatkan volume sampai 1 000 mL dengan air suling. Sterilisasi pada suhu 121 °C selama 15 menit, simpan pada refrigerator. Untuk membuat larutan pengencer 1,25 mL larutan stok diencerkan dengan air suling sampai volume 1 000 mL. Larutan tersebut dimasukkan ke dalam botol pengencer sebanyak 450 mL dan tabung reaksi sebanyak 9 mL, kemudian disterilisasi pada suhu 121 °C selama 15 menit.

A.8.1.4 Homogenisasi contoh

a) Timbang 50 g contoh secara aseptik ke dalam botol pengencer yang telah berisi 450 mL larutan pengencer steril sehingga diperoleh pengenceran 1:10; dan

b) kocok campuran beberapa kali sehingga homogen.

A.8.2 Coliform

A.8.2.1 Prinsip

Pertumbuhan coliform ditandai dengan terbentuknya gas pada tabung *Durham*, yang diikuti dengan uji biokimia dan selanjutnya dirujuk pada Tabel APM (Angka Paling Mungkin).

A.8.2.2 Peralatan

a. Inkubator (35 ± 1) °C, terkalibrasi;

b. Penangas air tertutup dengan sistem sirkulasi, (45,5 ± 0,2) °C;

c. Rak untuk tabung reaksi;

d. Pipet ukur 10 mL berskala 1 mL dan 1 ml berskala 0,1 mL steril;

e. Botol pengencer terbuat dari gelas borosilikat, dengan tutup ulir plastik;

f. Tabung reaksi

g. Tabung *Durham*;

h. Cawan petri gelas/plastik steril (ukuran 15 mm x 100 mm atau 15 mm x 90 mm); dan

i. Jarum Ose, dengan diameter dalam kira-kira 3 mm.

A.8.2.3 Perbenihan, pengencer dan pereaksi

a) *Lauryl sulfate tryptose* (LST) *broth* / *Lauryl tryptose* (LT) *broth*;

b) *Brilliant green lactose bile* (BGLB) *broth* 2 %;

c) *Butterfield's Phosphate-Buffered Dilution Water* (BPB);

"Hak Cipta Badan Standardisasi Nasional, copy standar ini dibuat untuk penayangan di website Akses SNI dan tidak untuk dikomersilkan"

A.8.2.4 Cara kerja

A.8.2.4.1 APM – Uji pendugaan untuk coliform

a) Lakukan persiapan dan homogenisasi contoh sesuai dengan A.9.1;

b) inokulasikan masing-masing 1 mL larutan dari setiap tingkat pengenceran (larutan 10^{-1}, 10^{-2} dan 10^{-3}) ke dalam tiga tabung *Lauryl sulfate tryptose* (LST) *broth* yang didalamnya terdapat tabung *Durham* terbalik. Pegang pipet sedemikian sehingga ujung bawah pipet menempel pada tabung. Biarkan isi pipet mengalir 2 detik sampai dengan 3 detik. Pipet jangan ditiup untuk mengeluarkan isinya;

c) masukkan tabung-tabung tersebut ke dalam inkubator pada suhu 35 ^{o}C selama (48 ± 2) jam;

d) amati tabung-tabung tersebut pada pada jam ke-(24 ± 2). Jika ada tabung yang telah mengandung gas, maka tabung tersebut dinyatakan ”positif”;

e) tabung-tabung yang belum mengandung gas dinyatakan “negatif”, lanjutkan inkubasi selama 24 jam;

f) catat adanya pembentukan gas dalam jumlah berapapun setelah inkubasi (48 ± 2) jam, dan nyatakan tabung tersebut “positif”; dan

g) lakukan uji penegasan terhadap semua tabung yang positif dalam uji pendugaan.

A.8.2.4.2 APM – Uji penegasan untuk coliform

a) Pindahkan satu Ose dari setiap tabung LST *broth* yang positif ke dalam tabung BGLB *broth* yang berlainan,

b) inkubasikan tabung-tabung BGLB *broth* tersebut ke dalam inkubator pada suhu (35 ± 1) °C selama (24 ± 2) jam, tabung yang telah terbentuk gas dinyatakan “positif”,

c) apabila negatif, inkubasikan dan periksa kembali pada jam ke-(48 ± 2). Jika telah terbentuk gas maka tabung tersebut dinyatakan "positif”, dan

d) Hitunglah APM coliform dengan menggunakan Tabel A.2 APM berdasarkan jumlah tabung - tabung dari 3 seri pengenceran yang telah dipastikan mengandung coliform

Tabel A.2 – APM/g contoh bila menggunakan 3 tabung untuk setiap tingkat pengenceran 0,1 g/mL; 0,01 g/mL; dan 0,001 g/mL contoh

Tabung yang positif			APM	Tabung yang positif			APM
0,1	0,01	0,001		0,1	0,01	0,001	
0	0	0	<3	2	2	0	21
0	0	1	3	2	2	1	28
0	1	0	3	2	2	2	35

“Hak Cipta Badan Standardisasi Nasional, copy standar ini dibuat untuk penayangan di website Akses SNI dan tidak untuk dikomersilkan"

Tabel A.2 (lanjutan)

Tabung yang positif			APM	Tabung yang positif			APM
0,1	0,01	0,001		0,1	0,01	0,001	
0	1	1	6	2	3	0	29
0	2	0	6	2	3	1	36
0	3	0	9	3	0	0	23
1	0	0	4	3	0	1	39
1	0	1	7	3	0	2	64
1	0	2	11	3	1	0	43
1	1	0	7	3	1	1	75
1	1	1	11	3	1	2	120
1	2	0	11	3	1	3	160
1	2	1	15	3	2	0	93
1	3	0	16	3	2	1	150
2	0	0	10	3	2	2	216
2	0	1	14	3	2	3	290
2	0	2	20	3	3	0	240
2	1	0	15	3	3	1	460
2	1	1	20	3	3	2	1100
2	1	2	27	3	3	3	>1100

A.8.3 Kapang

A.8.3.1 Prinsip

Pertumbuhan kapang dalam media yang sesuai setelah diinkubasi pada suhu (25 ± 1) °C selama 5 hari.

A.8.3.2 Peralatan

a) Inkubator (25 ± 1) °C, terkalibrasi;

b) Otoklaf;

c) Penangas air (45 ± 1) °C;

d) pH meter;

e) Alat penghitung koloni;

f) Pipet ukur 10 mL dan 1 mL, steril; dan

g) Cawan petri gelas/plastik (berukuran minimal 15 mm x 90 mm), steril.

A.8.3.3 Pembenihan, pengencer dan pereaksi

a) Agar dichloran 18% glycerol (DG 18);

"Hak Cipta Badan Standardisasi Nasional, copy standar ini dibuat untuk penayangan di website Akses SNI dan tidak untuk dikomersilkan"

b) Larutan pepton 0,1%

- pepton 1 g
- Air suling 1 000 mL

Larutkan pepton dalam air suling kemudian sterilkan dengan menggunakan otoklaf pada suhu 121 °C dan atur pH sehingga mencapai pH akhir (7,0 ± 0,2).

c) Larutan antibiotik:

Antibiotik ditambahkan di media kapang untuk mencegah pertumbuhan bakteri. *Chloramphenicol* adalah salah satu pilihan antibiotik, karena stabil saat diotoklaf. Konsentrasi antibiotik yang diizinkan adalah 100 mg per liter media. Jika tampak pertumbuhan bakteri, siapkan media dengan penambahan 50 mg per liter *chloramphenicol* sebelum otoklaf dan 50 mg per liter *chlortetracycline* steril saat media mulai di kondisikan, tepat sebelum menuang media dalam cawan.

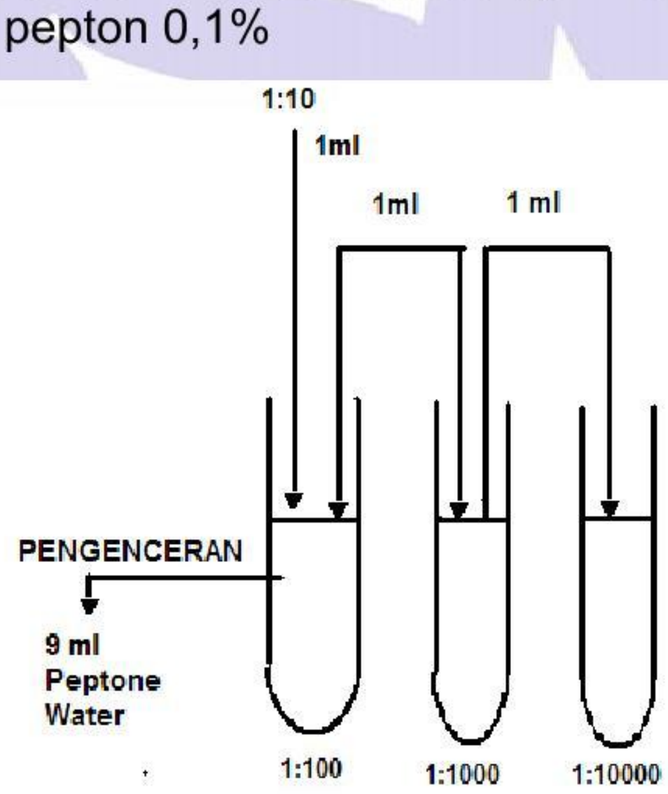
A.8.3.4 Persiapan dan Homogenisasi Contoh

a) Timbang 50 g contoh secara aseptik ke dalam botol pengencer yang telah berisi 450 mL larutan pepton 0,1% steril sehingga diperoleh pengenceran 1 : 10; dan

b) Kocok campuran beberapa kali hingga homogen

A.8.3.5 Cara kerja

a) Buat tingkat pengenceran dari 10^{-1} sampai dengan 10^{-4} seperti pada Gambar A.2 dengan menggunakan larutan pepton 0,1%



Gambar A.2 - Tingkat pengenceran menggunakan larutan pepton 0,1%

b) persiapan media dalam cawan dapat dilakukan dengan metode tuang (media DG 18):
 - pipet 1,0 mL masing-masing pengenceran ke dalam cawan petri dan sesegera mungkin tuangkan 20 mL sampai dengan 25 mL media;
 - campurkan dengan menggoyang cawan secara perlahan searah jarum jam, kemudian berlawanan arah jarum jam selama 1 menit sampai dengan 2 menit; dan
 - biarkan hingga campuran dalam cawan petri memadat.

c) masukkan semua cawan petri dengan posisi tidak terbalik ke dalam inkubator dan inkubasi pada ruang gelap bersuhu 25 °C selama 5 hari. Jangan menumpuk cawan lebih dari 3 tumpukan. Biarkan cawan dan jangan merubah posisinya;

d) hitung cawan yang mengandung 10 sampai dengan 150 koloni setelah 5 hari inkubasi. Jika setelah 5 hari tidak ada yang tumbuh, tambahkan waktu selama 48 jam. Jangan

"Hak Cipta Badan Standardisasi Nasional, copy standar ini dibuat untuk penayangan di website Akses SNI dan tidak untuk dikomersilkan"

menghitung koloni dalam cawan sampai batas waktu inkubasi berakhir, karena merubah posisi cawan dapat mengakibatkan pertumbuhan sekunder spora; dan

e) nyatakan hasil perhitungan sebagai koloni per gram contoh.

A.8.3.6 Perhitungan

$$\text{Kapang (koloni/g)} = n \times F$$

Keterangan:

n adalah rata-rata koloni dari dua cawan petri dari satu pengenceran, dinyatakan dalam koloni per gram (koloni/g) kapang dan khamir;

F adalah faktor pengenceran dari rata-rata koloni yang dipakai.

A.8.3.7 Pernyataan hasil

A.8.3.7.1 Cara membulatkan angka

Dalam melaporkan jumlah koloni atau jumlah koloni perkiraan hanya 2 angka penting yang digunakan, yaitu angka pertama dan kedua (dimulai dari kiri):

a) Jika angka ketiga lebih besar dari 5, maka bulatkan ke atas;

contohnya : 528 dilaporkan sebagai 530 penulisannya $5{,}3 \times 10^2$

b) jika angka ketiga kurang dari 5, maka bulatkan kebawah; dan

contohnya : 523 dilaporkan sebagai 520 penulisannya $5{,}2 \times 10^2$

c) jika angka ketiga sama dengan 5, maka bulatkan sebagai berikut:

– bulatkan ke atas jika angka kedua merupakan angka ganjil; dan

contohnya : 575 dilaporkan sebagai 580 penulisannya $5{,}8 \times 10^2$

– bulatkan ke bawah jika angka kedua merupakan angka genap.

contohnya : 565 dilaporkan sebagai 560 penulisannya $5{,}6 \times 10^2$

A.9 Aflatoksin

A.9.1 Prinsip

Aflatoksin B_1, B_2, G_1, dan G_2 dipisahkan dengan diekstraksi secara selektif menggunakan *Immuno Affinity Column* (IAC), ditetapkan secara Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT).

A.9.2 Peralatan

a) Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT)

b) Kertas saring standar kromatografi dengan ukuran *particle retention* 8 µm;

c) Pipet volumetrik 20 mL terkalibrasi;

d) Neraca analitik terkalibrasi dengan ketelitian 0,1 mg;

e) Pipet mikro 50 µL, 5 µL terkalibrasi;

f) Labu ukur 1 000 mL, 500 mL, 100 mL, dan 50 mL terkalibrasi;

g) Gelas piala 200 mL terkalibrasi; dan

h) Vorteks;

"Hak Cipta Badan Standardisasi Nasional, copy standar ini dibuat untuk penayangan di website Akses SNI dan tidak untuk dikomersilkan"

A.9.3 Pereaksi

a) Bahan penderivatisasi: Trifluoroasetat, TFA;
b) *Immuno Affinity Column,* IAC;
c) *Phospate Buffer Saline,* PBS;
d) Natrium Hidroksida, NaOH;
e) Metanol, CH_3OH; dan
f) Asetonitril;

A.9.4 Cara Kerja

A.9.4.1 Ekstraksi contoh kecap

a) Timbang 50 g contoh dengan ketelitian 0,01 g contoh kecap;
b) tambahkan 250 mL campuran metanol : air dengan perbandingan 80 : 20, dan 4 g NaCl;
c) kocok selama 30 menit, tambahkan 250 mL akuades;
d) saring dengan kertas saring berukuran partikel 8 µm hingga diperoleh filtrat.

A.9.4.2 Purifikasi Contoh Uji

a) Pipet filtrat 10 mL, tambahkan 20 mL PBS;
b) filtrat yang diperoleh dilewatkan ke dalam IAC, hasil elusi dibuang;
c) sebanyak 20 mL PBS dilewatkan ke dalam IAC, hasil elusi dibuang;
d) elusikan 1 mL metanol, diamkan 5 menit, kemudian tambahkan 1 mL metanol; dan
e) tampung 2 mL hasil elusi metanol dari IAC.

A.9.4.3 Prosedur Derivatisasi

A.9.4.3.1 Derivatisasi Contoh Uji

a) Pipet eluat 2 mL, evaporasi dengan nitrogen;
b) larutkan dengan 200 µL asetonitril;
c) tambahkan 700 µL campuran larutan penderivatisasi (10 mL TFA, 5 mL asam asetat, 35 mL akuades);
d) diamkan selama 9 menit pada suhu 65 °C;
e) evaporasi dengan nitrogen;
f) larutkan residu dengan 200 µL *mobile phase* (air : asetonitril : metanol dengan perbandingan 60 : 20 : 20);
g) injeksikan 20 µL aliquat (A) ke KCKT.

A.9.4.3.2 Derivatisasi Baku

a) Pipet baku campuran 200 ng / mL sebanyak 5 µL, 10 µL, 20 µL, 40 µL, dan 50 µL;
b) uapkan pelarut dengan nitrogen hingga terbentuk residu;
c) tambahkan residu dengan 50 µLTFA kemudian vorteks selama 30 detik;
d) tambahkan dengan 950 µL campuran asetonitril dan air (9 : 1) kemudian vorteks selama 30 detik;
e) injeksikan 20 µL aliquat (A) ke KCKT.

"Hak Cipta Badan Standardisasi Nasional, copy standar ini dibuat untuk penayangan di website Akses SNI dan tidak untuk dikomersilkan"

A.9.5 Cara Penetapan

Larutan A dan B masing-masing disuntikkan terpisah dan dilakukan KCKT dengan kondisi sebagai berikut:

- Kolom STR ODS-II (panjang kolom 25 cm, diameter dalam 4,6 mm) atau yang sesuai
- Fase gerak : asetonitril- metanol – air (20 : 20: 60)
- Laju alir : 0,8 mL per menit
- Detektor : Fluoresens, λ Eksitasi sebesar 366 nm dan λ Emisi sebesar 440 nm
- Volume penyuntikan : masing-masing 20 µL

A.9.6 Interpretasi Hasil

Kadar Aflatoksin B_1, B_2, G_1, dan G_2 dalam larutan uji dihitung menggunakan persamaan garis kurva kalibrasi baku Aflatoksin B_1, B_2, G_1, dan G_2.

$$\text{Kadar aflatoksin B1, B2, G1, dan G2} = \frac{C_{sp}}{W} \times F$$

Keterangan:

C_{sp} adalah kadar aflatoksin B1, B2, G1, dan G2 yang diperoleh dari perhitungan menggunakan kurva kalibrasi (ng/mL) ;

F adalah faktor pengenceran; dan

W adalah bobot sampel (g).

"Hak Cipta Badan Standardisasi Nasional, copy standar ini dibuat untuk penayangan di website Akses SNI dan tidak untuk dikomersilkan"

Bibliografi

Association of Official Analytical Chemistry. 2005. AOAC Official Method 920.176, *Nitrogen in Sugars and Syrups,* 18th Edition, Chapter 44.1.06.

Association of Official Analytical Chemistry. 2005. AOAC Official Method 960.29, *Salt in Butter,* 18th Edition, Chapter 33.6.06.

Association of Official Analytical Chemistry. 2005. *AOAC Official Method 971.21, Mercury in Foods, Atomic Absorption Spectrophotometric Method*, 18th Edition, Chapter 9.2.22.

Association of Official Analytical Chemistry. 2005. *AOAC Official Method 974.14, Mercury in Fish, Alternative Digestion Method,* 18th Edition, Chapter 9.2.24.

Association of Official Analytical Chemistry. 2005. *AOAC Official Method 985.16, Tin in Canned Foods, Atomic Absorption Spectrophotometric Method*, 18th Edition, Chapter 9.2.35.

Association of Official Analytical Chemistry. 2005. *AOAC Official Method 986.15, Arsenic, Cadmium, Lead, Selenium, and Zinc in Human and Pet Foods, Multielement Method*, 18th Edition, Chapter 9.1.01.

Association of Official Analytical Chemistry. 2005. *AOAC Official Method 999.11, Lead, Cadmium, Copper, Iron, and Zinc in foods: Absorption Spectrophotometry after Dry Ashing,* 18th Edition, Chapter 9.1.09.

Association of Official Analytical Chemistry. 2002. *AOAC Official Method 2000.01, Determination of 3-chloro-1,2-propanediol in foods and food ingredients by gas chromatografi with mass spectrometric detection,* 17th Edition, Chapter 48.1.06.

Food and Drug Administration. Bacteriological Analytical Manual. 2001. *Mold, Yeast and Mycotoxin*. Chapter 18

Food and Drug Administration. Bacteriological Analytical Manual. 2002. *Enumeration of Escherichia coli and the Coliform Bacteria*. Chapter 4.

Food and Drug Administration. Bacteriological Analytical Manual. 2003. *Food Sampling and Preparation of Sample Homogenate*. Chapter 1.

Sobolev, V.S. 2007. Simple, Rapid, and Inexpensive Cleanup Method for Quantitation of Aflatoxins in Important Agricultural Products by HPLC. *Journals of Agricultural and Food Chemistry* 55: 2136 – 2141.

SNI 7387: 2009. Batas maksimum cemaran logam berat dalam pangan

SNI 7388 : 2009. Batas maksimum cemaran mikroba dalam pangan.

"Hak Cipta Badan Standardisasi Nasional, copy standar ini dibuat untuk penayangan di website Akses SNI dan tidak untuk dikomersilkan"